

송이균 배양을 위한 균사생장 조건

김인엽 · 정광열 · 한상국 · 차주영¹ · 성재모*

강원대학교 농업생명과학대학 응용생물학과,
¹북해도대학 일본

Favorable Condition for Mycelial Growth of *Tricholoma matsutake*

In-Yeup Kim, Gwang-Reul Jung, Sang-Kuk Han, Joo-Young Cha¹ and Jae-Mo Sung*

Department of Applied Biology, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

¹Hokkaido University, Japan

(Received November 9, 2004)

ABSTRACT: The main objectives of this research were to study the cultural and nutritional characteristics of *Tricholoma matsutake* and to establish its liquid culture system. The optimum growth of *T. matsutake* was observed in HA and TMM agar media. Similarly highest growth was observed in PDB and TMM liquid media. The optimal temperature for the mycelial growth was 25°C. The most suitable carbon source was dextrin among 12 different carbon sources tested. Yeast extract and peptone were best nitrogen sources among 17 different sources tested. The optimum mineral salts were Fe₂(SO₄)₃·H₂O and KCl among 9 different sources tested. Shaking culture gave higher mycelial growth compared to stationary culture. Similarly, optimum medium amount for shaking culture was 100 ml per 250 ml flask. The highest mycelial growth was obtained when 5~7 mycelial discs were inoculated in 100 ml of medium and incubated for 8~9 weeks, respectively. The highest proportion of mycelial growth was observed at 40 : 1 ratio of medium to inoculum volume in 8 l air-lift fermenter.

KEYWORDS: Air-lift fermenter, Liquid culture, Optimum growth, *Tricholoma matsutake*

송이(*Tricholoma matsutake*)는 소나무의 뿌리에 균근을 형성한 후 소나무로부터 영양분을 얻는 외생균근균으로 한국을 비롯한 북한, 일본 및 중국 등 동아시아에서 널리 채집되어지고 있다. 일반적으로 송이버섯은 외형이 크고 육질이 충실하며, 특히 그 독특한 향과 맛으로 오래 전부터 최고의 식용버섯으로 취급되어 왔으며, 현재 우리나라를 비롯해 일본, 중국에서 인공재배와 생산량의 증수를 위한 활발한 연구가 이루어지고 있다.

송이의 분류학적 위치는 Hongo의 분류체계에 따라 분류하면 담자균문(Basidiomycota), 자실충균강(Hymenozymetes), 주름버섯목(Agaricales), 송이과(Tricholomataceae), 송이속(*Tricholoma matsutake*)에 속하며 처음에는 일본의 이토와 이마이가 *Armillariella matsutake*라고 명명하였지만, 후에 미국의 Singer가 *Tricholoma matsutake*로 재분류하여 현재에 이르고 있다(김창호, 1999).

송이의 인공재배를 위한 가장 중요한 요인으로 송이균을 분리하여 대량으로 배양하는 연구가 필요한데 이에 대한 연구는 기초적인 단계이다. 최근에는 송이 균사체의 액체배양을 위한 연구들이 진행되어 졌으며, 대부분 균사

생장에 적합한 배양용기 및 배양방법에 관한 연구들이 조사되었다. 송이균의 액체배양에서 통기량을 높일수록 펠릿(Pellet)의 형태가 작아진다고 하였으며, 형성되는 펠릿의 모양은 큰 구형(Large spherical type), 작은 구형(Small spherical type), 사상형(Filamentous type) 등 3가지 형태로 나타남을 제시하였다(Kawagoe *et al.*, 1999). 또 최근에 액체배양 용기의 형태에 따라서 송이 균사의 생장이 다르게 나타남을 조사하였고, 그 중 Balloon형의 배양기에서 균사의 생장이 양호하게 조사되었다(이 등, 2003). 한편 소나무 절편을 이용하여 토양과 한천배지에서 송이균의 생장이 일어날 수 있음을 밝히고, 송이균의 부생적인 능력에 대해 제시한 보고는 있으나 송이균에 인공배양에 대한 체계적인 보고는 아직 미흡한 편이다(Vaario *et al.*, 2002).

따라서 본 연구에서는 소나무림에 송이균환을 형성시키기 위한 새로운 방안으로 자연적으로 발생한 송이버섯을 분리배양하고 배양환경을 조사한 후 인공적으로 액체 대량 배양한 송이균사체를 대량으로 생산하는 최적조건을 구명할 실험 결과는 앞으로 송이균을 자연 상태의 소나무림에 접종한 후 송이를 생산하는데 기초자료로 이용될 수 있어 보고하는 바이다.

*Corresponding author <E-mail: jmsung@kangwon.ac.kr>

Table 3. Composition of different mixtures of media

Component	Media (g/l)							
	M+P ^a	Y+PD	T+PD	C+PY	H+PY	S+M	C+Y+P ^b	H+C+Y
Potato	100	100	100	100	100	100	67	
Dextrose	10	15	10				10	3.3
Glucose	5		10	7.5	12.5	5	3.3	10
Yeast extract	1.5	3	1.5	3		1.5	2	2
Malt extract		1.5	0.75	3	3	0.75	2	3
Peptone		3	0.5				1.67	1.67
MgSO ₄	0.075	0.25	0.25	0.5	0.5	0.075	0.33	0.33
KH ₂ PO ₄	0.25			1	1	0.25		0.67
K ₂ HPO ₄		0.5	0.5					
KCl				0.25			0.167	0.167
NaNO ₃		1	1	1			0.67	0.67
FeSO ₄		0.005	0.005	0.005			0.03	0.03
CaCl ₂	0.03	0.25	0.25				0.03	
NaCl	0.01						0.01	
FeCl ₃								
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.125						0.125	
Thiamine HCl	0.05 (mg)						0.05 (mg)	
Soytone			0.75				0.75	
Agar	20	20	20	20	20	20	20	20

^aHalf strength of each component media were added together when two different media were mixed.

^b1/3 strength of each component media were added together when three different media were mixed.

M, MMN; P, PDB; Y, YMM; PD, PDMP; T, TMM; C, CDY; PY, PYMS; H, HA; S, SYSP.

소원을 이용하였으며 조제할 때 질소원의 농도는 0.5%의 농도로 고정하고 탄소원의 경우 1%로 고정하였다. 무기염류는 CaCl₂를 포함한 9종의 무기염류를 이용하여 실험을 실시하였다. 배지를 조제 시에 증류수에 선발된 탄소원과 질소원의 농도를 각각 1%와 0.5%로 고정하고 무기염류의 경우 0.05%의 농도 고정하였다. 각각의 배지는 250 ml 삼각플라스크에 100 ml씩 조제하여 pH를 5.2로 조절한 후 고압살균 하였으며, 접종한 배지는 25°C의 항온기에서 90일간 정치배양 하였다.

액체 배양에 적합한 삼각플라스크의 종류와 배지량 선발

송이균의 액체배양에서 적정 삼각플라스크의 종류 및 배지량을 조사하기 위하여 TMM 액체배지를 250 ml Erlenmeyer flask와 Shake flask에 각각 50 ml, 100 ml, 150 ml씩 조제하여 고압살균 한 후 송이균을 각각 5개의 절편씩 접종하였다. 접종한 배지는 Erlenmeyer flask의 경우 25°C의 Incubator에서 정체배양을 실시하였으며, Shake flask의 경우 25°C의 Shaking incubator에서 진탕배양을 각각 45일간 실시하였다.

액체 배양에 적합한 삼각플라스크내의 접종량과 배양 기간 선발

송이균의 액체배양에서 삼각플라스크내의 적정 접종량을 조사하기 위하여 TMM 액체배지를 150 ml씩 조제하여 고압살균 하였으며, 살균된 액체배지에 접종원의 균사

선단부분을 직경 6 mm cork borer로 잘라 낸 다음 1~10 개의 절편씩 접종하였다. 접종한 배지는 25°C의 항온기에서 60일, 90일간 각각 배양한 후 회수하였다. 또한 적정 배양기간을 조사하기 위하여 TMM 액체배지를 조제하여 살균 후 배양된 송이균을 6개의 절편씩 접종하였다. 접종한 배지는 25°C의 Shaking incubator에서 12주간 배양을 실시하였으며, 1주일 간격으로 회수하여 균사체의 건중량을 조사하였다.

액체종균 배양을 위한 영양원 선발

액체 종균 배양을 위한 영양원 선발로 황설탕(yellow sugar), 백설탕(white sugar), 물엿(glutinous starch syrup), 감자(potato)를 이용하여 배지를 조제하였으며 대조구로는 탄소원 실험에서 선발된 dextrin을 이용하였다. 각각의 영양원의 농도는 2%로 고정시켰으며 감자의 경우 감자전즙배지(PDB)의 형태로 배지를 조제하였다. 배지는 삼각플라스크에 100 ml씩 조제하였으며, 접종한 배지는 25°C의 항온기에서 45일간 정치배양 하였다.

81 액체배양에서의 접종량 선발

송이균의 81 액체배양에서의 접종량 및 배양기간에 따른 균사체의 성장 정도를 조사하기 위하여 8 l의 배양병에 황설탕(yellow sugar) 160 g, 콩가루(soybean flour) 24 g, 통기 배양할 때 발생하는 거품을 제거하는 역할의 식물성 콩기름 5 ml를 성분으로 배지를 7 l 조제하였으며, HCl과 NaOH을 이용하여 pH를 5.2로 조절한 후 121°C 1.2 psi에

서 80분간 고압살균을 실시하였다. 살균된 배지는 24시간 동안 충분히 냉각을 시킨 후 2 l 배양병에서 약 45일간 통기 배양한 송이균을 각각 200 ml, 400 ml, 600 ml, 800 ml, 1000 ml로 접종량을 달리하여 접종을 실시하였다. 배양은 통기배양 시설이 갖춰진 25°C의 항온실에서 8주간 실시하였으며, 배양된 균사체의 측정은 초기 접종된 균사체의 양을 측정하고 매 1주마다 통기의 과정을 중단하고 30분간 균사체를 침전시킨 다음 성장한 균사체의 높이를 조사하였다.

결 과

우수균주 선발

균주 선발을 위한 배지는 CDY, TMM 액체배지를 사용하였으며, 25°C 배양실에서 60일간 배양한 결과 CDY, TMM 두 가지 액체배지 모두에서 T-003 송이균주가 다른 4개의 균주보다 생장이 우수하게 나타났다(Fig. 1). 선발

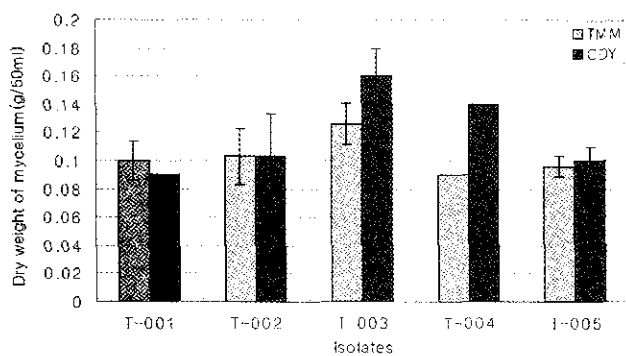


Fig. 1. Dry weight of mycelium of *Tricholoma matsutake* in TMM and CDY broth after 60 days of culture at 25°C.

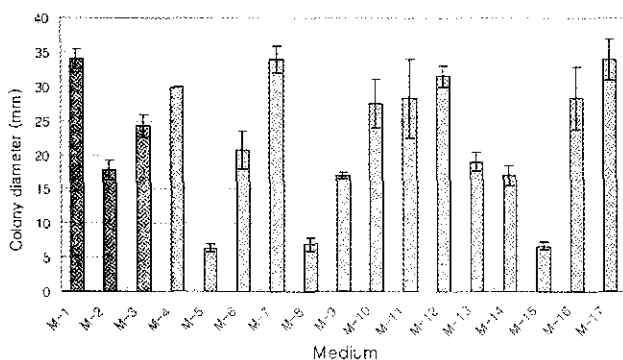


Fig. 2. Effect of medium on mycelial growth of *Tricholoma matsutake* (T-003) after 90 days of culture at 25°C. M-1, HA; M-2, PDA; M-3, MMN; M-4, PDMP; M-5, CDY; M-6, YMM; M-7, TMM; M-8, SYSP; M-9, PYMS; M-10, MMN+PDB; M-11, YMM+PDMP; M-12, TMM+PDMP; M-13, CDY+PYMS; M-14, HA+PYMS; M-15, SYSP+MMN; M-16, CDY+YMM+PDB; M-17, HA+CDY+YMM.

된 균주 T-003은 EFCC에서 6개월 간격으로 계대배양 하였으며 TMM 평판배지에 접종한 후 25°C의 배양실에서 약 30~40일간 배양한 후 이후 실험의 접종원으로 이용하였다.

송이균의 적정배지 선발

송이균의 적정배지를 선발하기 위하여 HA 배지를 비롯한 17종의 고체 및 액체배지를 이용하여 실험을 한 결과 고체배지의 경우(Fig. 2) 균사의 생장은 HA, TMM, HA+CDY+YMM 배지에서 우수하게 나타났으며, PDMP 배지에서도 비교적 양호한 생장을 보였다. 액체배지의 경우(Fig. 3) PDB, PDMP, TMM 액체배지에서 높은 생장을 보였으며, TMM+PDMP 배지에서도 비교적 양호한 균사 생장을 나타냈다. 의도한 2~3가지 배지를 조합한 배지에서는 결과적으로 송이균의 생장이 그리 우수하게 나타나지 않았다. 배양하는 동안 특히하게도 MMN 배지의 경우

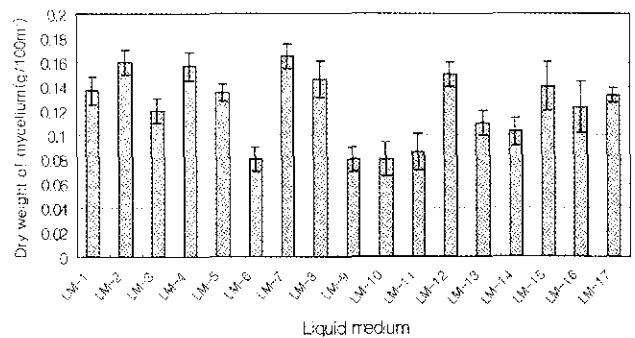


Fig. 3. Effect of liquid medium on mycelial dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) after 90 days of culture at 25°C. LM-1, HA; LM-2, PDB; LM-3, MMN; LM-4, PDMP; LM-5, CDY; LM-6, YMM; LM-7, TMM; LM-8, SYSP; LM-9, PYMS; LM-10, MMN+PDB; LM-11, YMM+PDMP; LM-12, TMM+PDMP; LM-13, CDY+PYMS; LM-14, HA+PYMS; LM-15, SYSP+MMN; LM-16, CDY+YMM+PDB; LM-17, HA+CDY+YMM.

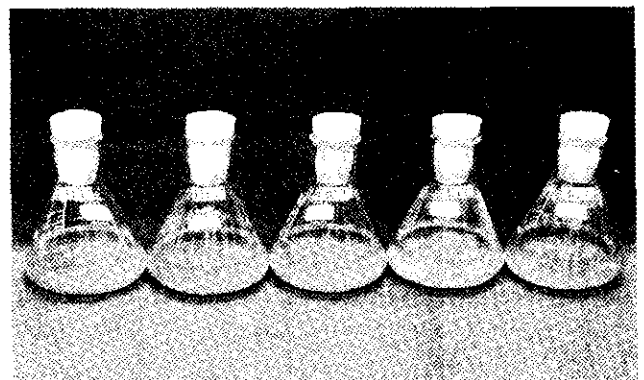


Fig. 4. Effect of temperature on mycelial growth of *Tricholoma matsutake* (T-003) after 60 days of culture in TMM broth.

접종 후 초기의 균사생장이 다른 배지들보다 월등히 좋으나, 배양기간이 길어질수록 생장이 느려짐이 관찰되었다.

송이균의 적정 배양 온도 구명

송이균의 적정 배양온도를 조사하기 위하여 10, 15, 20, 25, 30°C 범위로 맞춘 항온기에서 60일간 배양한 결과 (Fig. 4) 10°C에서 25°C의 조건에서는 생장이 일어났으나, 30°C에서는 생장이 거의 일어나지 않았다. 송이균의 생장이 가장 높게 나타난 조건은 25°C이었으며, 25°C에서 온도가 점차 낮아질수록 균의 성장도 느려짐을 볼 수 있었다.

송이균에 대한 적정 탄소원, 질소원과 무기염류 구명

송이균의 균사 성장에 적합한 탄소원, 질소원과 무기염

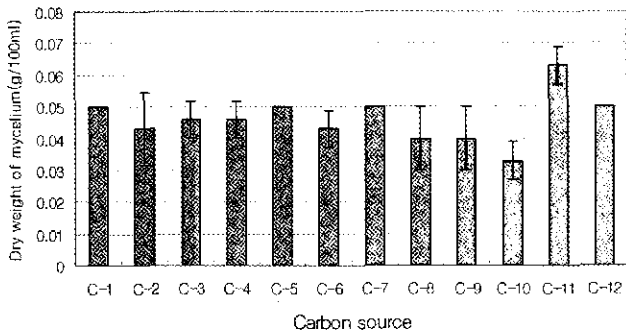


Fig. 5. Effect of carbon sources on mycelial dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) after 90 days of culture at 25°C. C-1, Arabinose; C-2, Fructose; C-3, Galactose; C-4, Glucose; C-5, Mannose; C-6, Xylose; C-7, Lactose; C-8, Maltose; C-9, Saccharose; C-10, Cellulose; C-11, Dextrin; C-12, Starch (soluble).

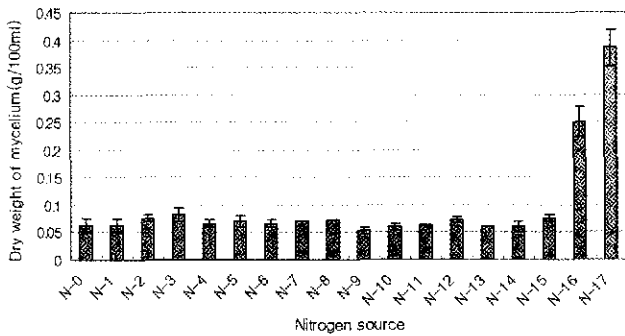


Fig. 6. Effect of nitrogen sources on mycelial dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) in liquid medium containing dextrin (1%) after 90 days of culture at 25°C. N-0, None; N-1, Ammonium nitrate; N-2, Ammonium phosphate; N-3, Ammonium sulfate; N-4, Potassium nitrate; N-5, Sodium nitrate; N-6, Alanine; N-7, Serine; N-8, Glycine; N-9, Urea; N-10, Arginine; N-11, Asparagine; N-12, EDTA; N-13, Acrylamide; N-14, N-lauroyl-sarcosine; N-15, Trizma; N-16, Peptone; N-17, Yeast extract.

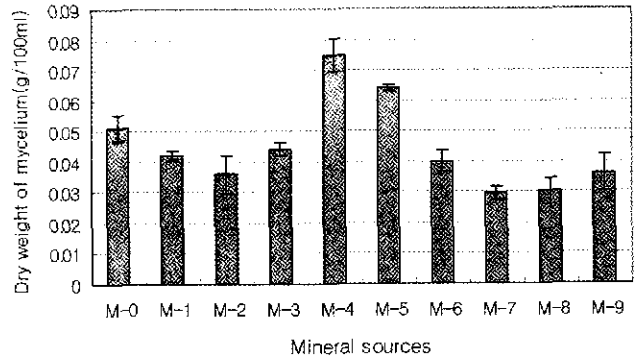


Fig. 7. Effect of mineral sources on mycelial dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) in liquid medium containing dextrin (1%) and yeast extract (0.5%) after 45 days of culture at 25°C. M-0, None; M-1, CaCl₂; M-2, CaCO₃; M-3, CuSO₄·5H₂O; M-4, Fe₂(SO₄)₃·H₂O; M-5, KCl; M-6, KH₂PO₄; M-7, MgSO₄; M-8, MnSO₄·5H₂O; M-9, NaCl.

류를 선별하기 위하여 90일간 액체배양을 실시한 결과 탄소원은 다당류인 Dextrin에서 가장 많은 균사의 생장이 나타났으며, Starch(soluble)에서도 비교적 우수한 균사 성장을 보였다. 그 외 단당류와 이당류는 생장이 거의 유사한 수준이었으며, Xylose, Saccharose, Cellulose에서는 거의 생장이 일어나지 않았다(Fig. 5). 질소원은 증류수와 질소원만으로 배양한 실험에서는 유기태 질소원인 Yeast extract와 Peptone에서만 균사의 생장이 일어남을 볼 수 있었고, 이에 보다 명확하게 질소원의 영향을 알아보기 위해 탄소원(Dextrin)과 질소원을 같이 넣어 배양한 실험을 실시하였으나, 그 결과 역시 Yeast extract와 Peptone에서 균사의 생장이 높게 나타남을 볼 수 있었다(Fig. 6). 그 외의 다른 질소원에서 생장은 탄소원의 영향으로 판단되며 특별한 효과는 나타나지 않았다. 무기염류는 전체적으로 성장에서 큰 차이는 보이지 않았으나, Fe₂(SO₄)₃·H₂O와 KCl에서 비교적 생장이 양호하게 나타났다(Fig. 7).

삼각플라스크의 종류 및 배지량 선별

송이균의 액체배양에서 삼각플라스크의 종류 및 배지량이 균사 성장에 최적의 환경을 선별한 결과 Shake flask에서 진탕배양을 통해 성장한 균사체의 양이 정체배양을 통해 성장한 균사체의 양보다 약 2~3배 더 많이 생성되는 것으로 조사되었으며, 배지량에 따른 조사에서는 100 ml의 배지량으로 진탕배양을 통해 배양한 실험구에서 가장 많은 균사체의 생장이 나타났다. 그러나 정체배양의 경우 배지량에는 크게 영향을 받지 않는 것으로 조사되었다. 또한 진탕배양의 경우 배지량에 따라 펠릿의 형태가 다르게 나타났다. 50 ml이나 100 ml의 경우 형성된 펠릿의 크기가 비교적 작고, 그 수가 많이 형성되었고, 150 ml의 경우 굵은 형태의 펠릿을 형성하며 펠릿의 수도 극히 작았다. 반면 정체배양의 경우 배지량에 따른 균사체의 형태

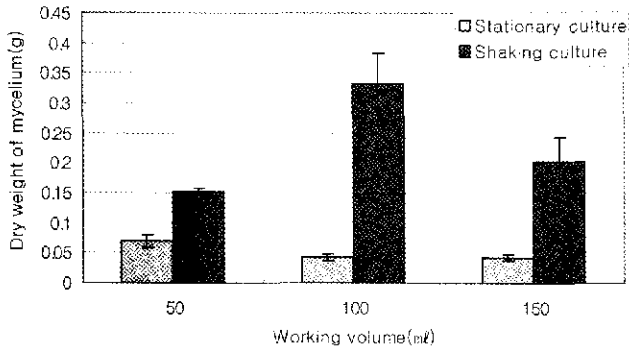


Fig. 8. Effect of culture type and medium amount on mycelial dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) after 45 days of flask culture (250 ml) in TMM broth.

는 차이를 보이지 않았다(Fig. 8).

삼각플라스크내의 접종량과 배양기간 선발

송이균의 액체배양에서 삼각플라스크내의 접종량과 배양기간에 따른 균사생장을 선발한 결과 접종량은 60일간 배양한 경우 접종량이 6개까지는 접종량에 따라 배양된 균사체의 양이 점차 증가하는 현상을 보였으나, 그 이상

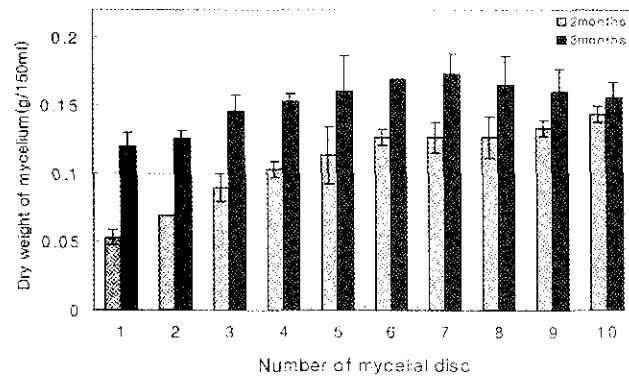


Fig. 9. Effect of inoculum amount on mycelial dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) in TMM broth after 2 and 3 months of culture.

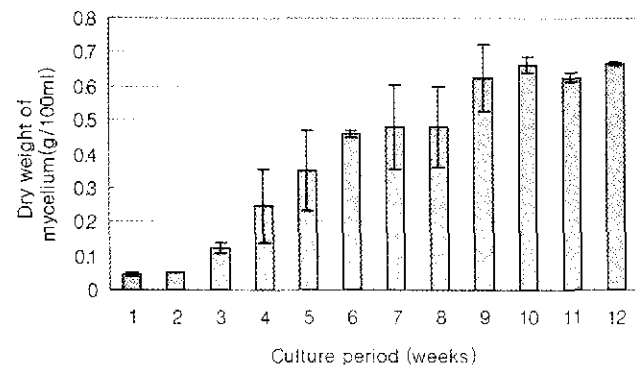


Fig. 10. Effect of culture period on mycelium dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) in TMM broth.

의 접종량에서는 크게 증가하지 않았다. 또한 90일까지의 실험 결과에서도 접종량이 6~7개에서 우수한 균사 생장량을 나타내었으며, 그 이상의 접종량에서는 오히려 균사 생장량이 감소되는 현상을 보였다(Fig. 9). 배양기간은 1~3주간의 배양에서는 크게 균사체의 생장이 나타나지 않았다. 그러나 4주간 배양한 균사체의 경우 펠릿의 세분화 현상이 많이 나타났으며, 이후 5~8주간의 배양에서는 펠릿의 세분화와 균사체의 생장이 계속적으로 증가하였다. 하지만 9주 이후로는 균사체의 생장량이 더 이상 크게 증가하지 않았다(Fig. 10).

액체종균 배양을 위한 균사 생장에 최적 영양원 선발

액체 종균 배양에 적합한 영양원을 선발한 결과 감자 추출배지의 경우 적정 탄소원인 dextrin 보다 생장이 양호하였으나 이 외의 3가지 영양원은 dextrin 보다 성장한 균사체량이 작았다. 황설탕의 경우 약간의 생장이 일어났지만, 물엿이나 백설탕의 경우 생장이 매우 미약하였다(Fig. 11).

8 l 액체배양에서의 접종량에 따른 조사

8 l 배양에서 접종량 및 배양기간에 따른 균사체의 증가량을 조사한 결과 접종 후 약 1~3주까지는 전체적으로 송이균의 생장이 빠르게 일어났지만 약 3~8주까지는 접종량이 많을수록 균사의 생장이 점차 느려짐을 볼 수 있었

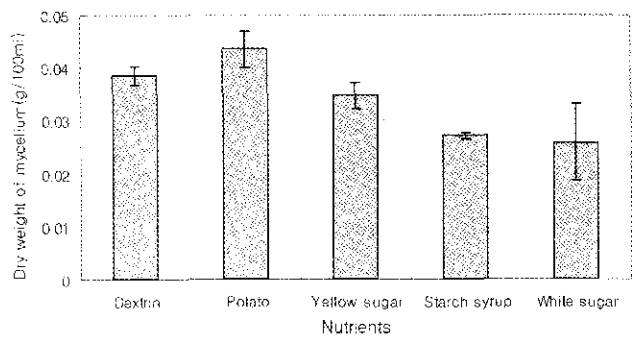


Fig. 11. Effect of general nutrients on mycelium dry weight of *Tricholoma matsutake* (T-003) after 45 days of culture at 25°C.

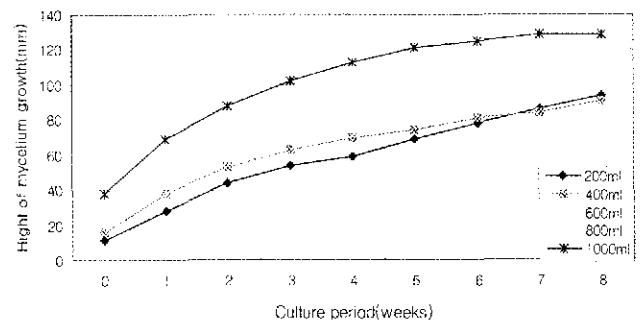


Fig. 12. Effect of inoculum amount on mycelium growth of *Tricholoma matsutake* (T-003) in 8 l air-lift fermenter.

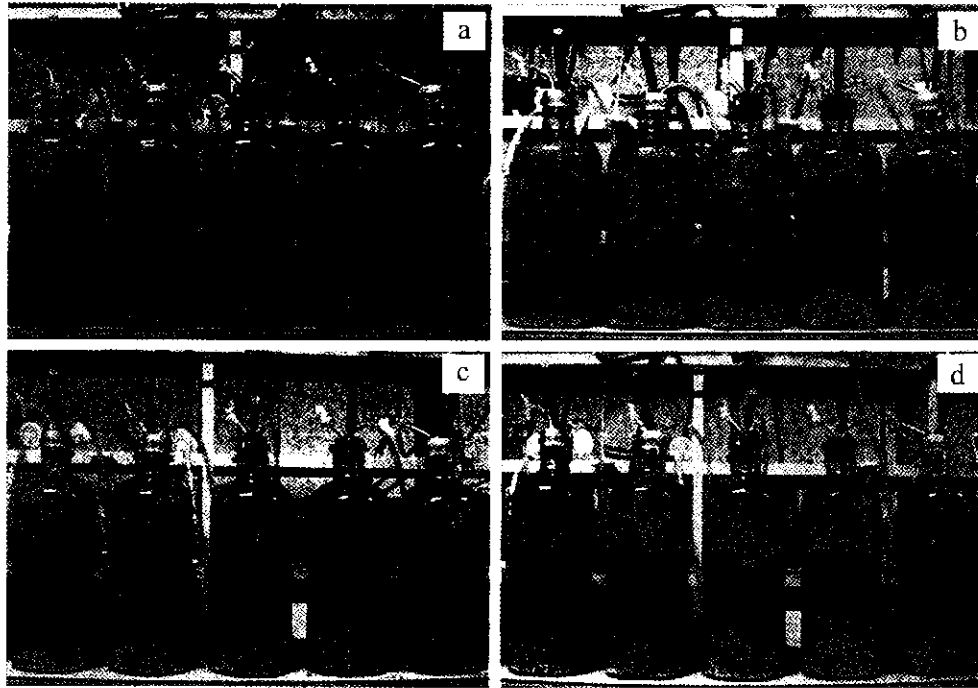


Fig. 13. Effect of inoculum amount on mycelium growth of *Tricholoma matsutake* (T-003) in 8 l air-lift fermenter after one week. (a), three weeks. (b), five weeks. (c) and eight weeks. (d). In each figure, inoculum amount of 200 ml (first from left), 400 ml (second from left), 600 ml (third from left), 800 ml (fourth from left) and 1000 ml (last from left) per bottle.

다. 또한 초기 접종량에 비해 증가된 송이균사체량을 살펴본 결과 초기 접종량이 200 ml와 600 ml에서는 2.5배, 200 ml와 1000 ml에서는 4배의 균사체량의 차이를 나타냈으며, 4주간 배양 후 200 ml와 600 ml에서 균사체 증가량은 거의 차이를 나타내지 않았으며, 200 ml와 1000 ml에서는 0.5배 정도 1000 ml에서 균사체의 증가량이 높았다. 하지만 8주간 배양한 경우 200 ml, 600 ml, 1000 ml 접종량에서 증가한 균사체량은 거의 차이를 나타내지 않았다. 결과적으로 접종량이 가장 작았던 200 ml에서 가장 효과적인 균사의 생장을 얻을 수 있었다(Figs. 12, 13).

고 찰

송이(*Tricholoma matsutake*)는 주로 소나무의 뿌리에 외생균근을 형성하는 공생균으로 일부 부생적인 능력을 가진 임의 부생균으로 볼 수 있다(Vaario *et al.*, 2002). 하지만 다른 일반적인 부생버섯균 보다 부생적인 능력이 낮은 특성으로 인해 인공배지에서 그 생장이 매우 미약하며, 현재까지 소나무를 제외한 인공배지에서는 그 자실체가 형성된 결과가 보고 되어지지 않고 있다. 이러한 송이는 우리나라를 비롯하여 일본, 중국 등 주요 3개국의 송이 연구가들에 의해 지속적 송이 생산을 위한 많은 연구 결과들이 보고 되고 있으며, 특히 현재는 송이균의 배양적인 연구, 효소화적인 연구, 균근에서의 물질이동에 관한 연구 및 분자생물학적 연구 등이 주목을 이루고 있다.

본 실험에서는 송이균의 배양적인 특성과 액체 종균생산을 위한 대량 배양 조건을 조사하였으며, 송이균의 생육에 영향을 미치는 배양적인 특성 조사로 주로 정제된 시약을 사용하여 기본배지 선발을 실시한 결과, 고체배지로는 HA, TMM 배지가 액체배지로는 PDB, TMM 배지가 균사생장에 효과적이었다. 김 등(1984)은 송이균사 배양배지로 Honey, Yeast extract, 송이 추출액, 소나무 뿌리 추출액, 송림 토양 추출액, KH_2PO_4 , Inositol, Folic acid, Biotin 등을 포함한 배지에서 생장이 우수하다고 보고하였으며, Lee *et al.*(1997)은 시약을 이용한 액체배지 실험 결과로 CDY, YMM 배지에서 우수하였으나, TMM 배지에서는 균사의 생장이 낮은 것으로 나타내어 본 실험과 상이한 결과를 나타내었다. 또한 세균 배양배지에서는 송이균의 생장이 거의 일어나지 않음을 보고하였다. 송이균의 적정 배양온도 조사에서는 25°C에서 균사의 생장이 양호하였으며, 김 등(1984)의 결과에서도 포자 발아온도 및 균사 생장온도를 24°C로 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 나타내고 있었다.

송이균의 영양원에 따른 배양 조사에서는 적정 탄소원으로 Dextrin, 질소원으로 Yeast extract, Peptone, 그리고 무기염류로는 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 와 KCl로 조사되었다. Lee *et al.*(1997)은 적정 탄소원으로 다당류인 Starch와 이당류의 Trehalose, Maltose 그리고 단당류로 Sorbitol, Xylitol, Glucose에서 균사의 생육이 양호하다고 보고하였다. 하지만 Dextrin을 사용하지 않아 비교 분석하기에 어려움이

있으며, Starch에서 생장이 양호한 결과는 본 실험과 어느 정도 일치함이 있었다. 또한 송이균의 배양에서 영향을 주는 비타민으로는 Pyridoxine, Coconut water를 보고하였다. 김 등(1984)은 탄소원으로 Glucose 보다 Honey에서 송이균사의 생장이 좋음을 제시한 바 있다. 민 등(1998)은 적정 질소원으로 Yeast extract, Soytone를 보고하여 본 실험의 결과와 유사하게 나타났다.

송이균의 액체 접종원 배양을 위한 기본 조사에서 250 ml의 삼각플라스크를 이용한 송이균 배양에서는 일반 정체 배양보다 진탕배양에서 2~7배의 건조 균사체량을 얻을 수 있었으며, 배지량은 100 ml에서 높은 균사 생장을 나타내었다. 또한 진탕배양에서는 배지량이 많을수록 형성된 균사의 펠릿의 크기는 커짐을 알 수 있었으며, 접종원으로 이용하기에는 비교적 펠릿의 수가 많이 형성된 50 ml이나 100 ml의 배지량으로 배양된 균사체를 이용하는 것이 적당한 것으로 판단되었다. 삼각플라스크 배양할 때 적정 접종량 조사에서는 평판배지에서 배양된 송이균사체 절편을 6~7개 접종한 플라스크에서 효과적인 균사 생장량을 얻을 수 있었으며, 배양기간 조사에서는 처음 1~3주간은 균사의 생장이 나타나지 않았지만 배양 4주째부터 송이균사체의 생장과 펠릿의 분화가 눈에 띄게 나타나기 시작했으며, 이 후로 9주 이상 배양하여도 더 이상 균사의 생장이 나타나지 않았다. 따라서 삼각플라스크 배양기간은 5~9주가 유효할 것으로 판단되었다.

8리터 액체 통기 배양에서 접종량에 따른 실험에서 접종량을 각각 200 ml, 400 ml, 600 ml, 800 ml, 1000 ml로 접종 후 배양한 결과 초기 3주간은 모든 배양병에서 생장이 빠르게 일어났으며, 이 후로는 접종량이 많을수록 생장의 감소가 조금씩 일어나게 되었다. 결과적으로 4주간 배양하여 증가한 균사체량을 조사한 결과 1000 ml의 접종한 배양병의 경우 200 ml 접종한 배양병보다 0.5배의 균사체가 많았으며, 배양 8주 후에는 증가한 균사체량이 거의 차이를 나타내지 않았다. 따라서 접종원의 효율에서는 접종원의 양이 가장 작았던 200 ml가 가장 효과적인 것으로 나타났다.

적 요

송이(*Tricholoma matsutake*)균을 고체배양과 액체배양에서 균사 생장의 적합한 조건을 구명함으로써 앞으로 송이균을 대량 배양하여 접종함으로써 송이를 생산할 수 있는 가능성을 얻기 위하여 본 연구를 실시하였다. 송이균은

고체배지의 경우 HA, TMM 배지에서 생장이 양호 하였으며, 액체배지의 경우 PDB, TMM 배지에서 균사의 생장이 우수하게 나타났다. 온도에서는 25°C에서 균사의 생장이 가장 효과적이었다. 송이균이 잘 성장하는 탄소원은 다당류인 Dextrin이고 질소원은 Yeast extract와 Peptone이고 $Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$ 와 KCl이었다. 액체배양에서는 균사의 생장은 플라스크 배양에서 진탕배양에서 정체배양보다 2~7배 정도의 균사의 생장이 좋았으며, 100 ml 가장 양호 하였다. 균사의 절편을 삼각플라스크에 6~7개 넣어서 배양하는 것이 양호하였으며 배양기간은 접종 후 4주에서부터 균사의 생장과 펠릿의 분화가 나타나기 시작하여 9주까지 활발하게 성장하였다. 대량배양에서 균사생장이 양호한 배지로는 감자추출배지이었으며 8리터 병에 200 ml 접종량을 넣고 8주간 배양하면 송이의 균사체량이 가장 많이 얻을 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 국책연구개발사업인 유전자원지원활용사업단의 연구비 지원 사업에 의해 수행되었습니다. 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- 김창호, 1984. 송이균의 배양환경에 대한 증식반응에 관한 연구. 한국임학회지 64: 33-41.
- 민용기, 정광교, 한영환, 1998. 송이균사의 생육에 미치는 복합 질소원의 영향. 한국균학회지 26(3): 361-364.
- 성재모, 류희우, 박동수, 정성모, 1995. 느타리버섯 액체종균을 이용한 느타리버섯 생산에 관한 연구. 농수산부특정연구과제 1차년도 보고서, 113.
- 이위영, 안진권, 가강현, 권영진, 2003. 공기부양식 생물반응기의 형태별 송이균사의 생장특성 비교. 한국균학회지 31(2): 89-93.
- 이창유, 홍운표, 정명준, 한영환, 1997. 송이균사의 생육에 미치는 탄소원 및 비타민의 영향. 한국균학회지 25: 226-232.
- Lee, T. S. Kim, Y. R. Jo, J. M. Lee and J. Y. M. Ogawa 1983. A study on the pine forest conditions growing *Tricholoma matsutake* in Korea. *Kor. J. Mycology* 11(1): 39-49.
- Vaario, L.-M., Guerin-Laguette, A., Matsushita, N., Suzuki, K. and Lapcyric, F. L. 2002. Saprobic potential of *Tricholoma matsutake*: growth over pine bark treated with surfactants. *Mycorrhiza* 12(1): 1-5.
- Kawagoe, M., Kawakami, K., Nakamura, Y., Naoe, K., Miki, K. and Noda, H. 1999. Submerged culture of *Tricholoma matsutake* mycelium in bubble column fermentors. *Journal of Bio-science and Bioengineering* 87(1): 116-118.